



**LAUREA**  
AMMATTIKORKEAKOULU  
*Yhdessä enemmän*

# Kosmetiikan mikrobiologinen laadunvalvonta

## Case: Naviter Oy

Pääkkönen, Mari

2015 Laurea

Laurea-ammattikorkeakoulu

Kosmetiikan mikrobiologinen laadunvalvonta  
Case: Naviter Oy

Mari Pääkkönen  
Kauneushoitoala  
Opinnäytetyö  
Joulukuu, 2015

Mari Pääkkönen

**Kosmetiikan mikrobiologinen laadunvalvonta**  
**Case: Naviter Oy**

Vuosi	2015	Sivumäärä	34
-------	------	-----------	----

---

Tämän toiminnallisen opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää, miten toimeksiantajayritys voisi suorittaa valmiiden kosmetiikkatuotteiden mikrobiologisen laadun testaamisen laboratoriossaan ja kuinka kannattavaa tämä on verrattuna ulkoistettuun toimintoon. Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi suomalainen kosmetiikan valmistaja Naviter Oy. Opinnäytetyön tarve nousi yrityksen halusta kehittää laboratoriotaan ja valmistamiensa kosmetiikkatuotteiden laadunvalvontaprosessia. Opinnäytetyön aihe rajattiin koskemaan valmiiden tuotteiden mikrobiologisen laadun testaamista, ja työ on osa yrityksen laajempaa laadunvalvonnan edistämistyötä.

Opinnäytetyön teoriaosuudessa keskitytään tarkastelemaan kosmetiikan mikrobiologiseen laatuun vaikuttavia tekijöitä ja laadun testaamiseen käytettyjä menetelmiä. Teoriapohja ja yrityksen toiveet käyttäjäystävällisestä ja nopeasta testausvälineestä ohjasivat opinnäytetyön toiminnallisena osuutena tehtyä selvitystyötä.

Selvitystyön tiedot kerättiin kontaktoimalla laitevalmistajia ja -maahantuoja. Saaduista tiedoista koottiin kirjallinen raportti toimeksiantajayritykselle. Kosmetiikan mikrobiologiseen laadunvalvontaan tarkoitettuja nopeita testausvälineitä on markkinoilla vielä rajoitetusti. Soveltuvat laitteistot hyödyntävät mikrobien aineenvaihduntaa eri tavoin ja näytteiden analysointi on nopeampaa kuin perinteisin testausmenetelmin. Toimeksiantajayritys voi hyödyntää selvitystyön tuloksia suunnitellessaan laboratorion kehittämistyön etenemistä ja tulevia laitehankintoja.

Asiasanat: mikrobiologinen laadunvalvonta, mikrobikasvu, kontaminaatio, testausmenetelmät

Mari Pääkkönen

**Microbiological quality control of cosmetics**  
**Case: Naviter Oy**

Year	2015	Pages	34
------	------	-------	----

---

The intention of this functional thesis was to find out how a cooperation company could conduct their microbial quality tests in the laboratory and how profitable that is compared to outsourced activities. This thesis was assigned by a Finnish cosmetics manufacturer, Naviter Oy. The need for this thesis rose from the company's interest to develop the laboratory and quality control process of their manufactured cosmetic products. The topic of this thesis was restricted to the testing of microbiological quality of the finished products. The work is part of a wider improvement work concerning the quality control of the company.

In the theoretical part the focus was on the factors which affect the microbiological quality of cosmetic products and on the methods that have been used for testing the quality. The theory and company's desire for user-friendly and quick testing device directed the report work that was done as a functional part of the thesis.

The information for the report work were collected by contacting the manufacturing and import companies. From the received information a written report was conducted to the cooperation company. The supply of quick test equipment for microbial quality control of cosmetics on the market is still limited. The suitable equipment utilises the metabolism of microbes in different ways and the analysis of samples is quicker than with traditional test methods. The cooperation company can utilise the results of the report work when planning the development progress of the laboratory and the future device acquisitions.

Keywords: microbiological quality control, microbial growth, contamination, test methods

## Sisällys

1	Johdanto .....	6
2	Toimeksiantajayritys .....	7
3	Mikrobiologia ja mikrobit .....	7
4	Kosmetiikan mikrobiologian historia .....	8
5	Mikrobit kosmetiikassa .....	9
	5.1 Kosmetiikan todennäköisimmät taudinaiheuttajat .....	11
6	Mikrobikasvun esto .....	13
	6.1 Säilöntäaineet .....	14
7	Kosmetiikan mikrobiologinen laadunvalvonta .....	15
	7.1 Lait ja ohjeistukset .....	16
8	Testausmenetelmät .....	18
	8.1 Perinteiset menetelmät .....	19
	8.2 Modernit menetelmät .....	20
	8.2.1 Kasvualustan muutoksiin pohjautuvat testausmenetelmät .....	21
	8.2.2 Fluoresenssiin perustuvat menetelmät .....	21
	8.2.3 Molekyylibiologiset testausmenetelmät .....	22
	8.3 Validointi .....	23
9	Selvitystyön toteutuksen kuvaus .....	24
10	Selvitystyön tulokset .....	25
	10.1 Laitteisto 1 .....	26
	10.2 Laitteisto 2 .....	26
	10.3 Laitteisto 3 .....	27
	10.4 Laitteisto 4 .....	28
11	Yhteenveto .....	28
12	Pohdinta .....	29
	Lähteet .....	31
	Kuvat .....	33
	Taulukot .....	34

## 1 Johdanto

Kosmeettisten valmisteiden on oltava turvallisia normaaleissa ja kohtuudella ennakoitavissa käyttöolosuhteissa. Kosmetiikan ei tarvitse olla steriiliä, mutta tietyt yleisesti hyväksytyt mikrobien määrälliset ja laadulliset raja-arvot on annettu. Mikrobiologisen laadunvalvonnan avulla voidaan taata kuluttajille turvalliset ja laadukkaat tuotteet.

Opinnäytetyön toimeksiantajana toimi Naviter Oy, joka on kosmetiikkaa valmistava, myyvä ja markkinoiva perheyrittäjä Helsingissä. Yritys valmistaa kahta omaa ammattilaiskosmetiikkasarjaa sekä lisäksi useita kosmetiikkasarjoja asiakasyrityksilleen. Opinnäytetyön aihe nousi toimeksiantajayrityksen halusta kehittää laboratoriotaan ja valmistamiensa kosmetiikkatuotteiden laadunvalvontaprosessia. Opinnäytetyö on osa laajempaa yrityksen laadunvalvontaprosessin edistämistyötä. Opinnäytetyön aihe rajattiin käsittelemään valmiiden kosmetiikkatuotteiden mikrobiologisen laadun testaamista. Tuotteiden säilöntää ja sen testaamista sivutaan työssä vain lyhyesti.

Opinnäytetyö on toiminnallinen työ, jossa selvitetään millaiset mahdollisuudet toimeksiantajayrityksellä on suorittaa valmiiden tuotteiden mikrobiologisen laadun testaus omissa tiloissaan ja kuinka kannattavaa tämä on. Käytännössä tämä tarkoittaa eri laitteiden valmistajien ja maahantuojien kontaktointia ja selvitysraportin laatimista. Toiminnallista osuutta ohjasivat toimeksiantajayrityksen toiveet mikrobiologisen laadun testaamisen helppoudesta, nopeudesta ja kustannustehokkuudesta.

Monet asiat vaikuttavat valmiin kosmetiikkatuotteen mikrobiologiseen laatuun. Työn teoreettinen pohja koottiin näistä tekijöistä. Teoriaosuudessa käydään läpi mikrobiologiaa ja mikrobeja yleisesti, jotta näiden asioiden liittäminen kosmetiikan näkökulmaan on helpompaa. Teoriaosuudessa perehdytään tarkemmin kosmetiikan kannalta olennaisiin mikrobeihin ja mikrobiologian menetelmiin. Teoria kattaa myös mikrobiologisen laadunvalvonnan kannalta oleelliset EU-maita koskevat lait, säädökset ja ohjeistukset. Teoriaosuudessa oli tärkeää perehtyä mikrobiologisen laadun testausmenetelmiin, jotta työn toiminnallisessa osuudessa voitiin etsiä ja arvioida toimeksiantajayritykselle sopivia ratkaisuja.

Opinnäytetyön tavoitteena oli tuottaa toimeksiantajayritykselle hyödyllinen selvitys markkinoilla olevista sovelluksista. Toimeksiantaja voi hyödyntää opinnäytetyötä arvioidessaan mikrobiologisen laadun testaamisen sisäistämisen kannattavuutta kokonaisuudessaan. Opinnäytetyön tärkeänä tavoitteena oli myös luoda lukijalle selkeä kuvaus kosmetiikan mikrobiologisen laadunvalvonnan merkityksestä; siitä miksi ja miten laadunvalvontaa tehdään.

## 2 Toimeksiantajayritys

Opinnäytetyön toimeksiantajayrityksenä toimi Naviter Oy, joka on suomalainen kosmetiikkaa kehittävä ja valmistava perheyritys. Yritys valmistaa innovatiivisia ihon- ja hiustenhoitotuotteita Helsingissä. Naviter on erikoistunut ammattikosmetiikkaan, luonnonkosmetiikkaan ja medikaaliseen kosmetiikkaan sekä herkän ihon tuotteisiin. (Naviter Cosmetics 2015.)

Naviter Oy on sitoutunut tukemaan suomalaista hyvinvointia ja uusia innovaatioita. Yritys tarjoaa ainoastaan turvallisia ja korkealaatuisia tuotteita, joiden koko tuotantoprosessissa otetaan huomioon ympäristöystävällisyys. Luonnonmukaisuus ja raaka-aineiden korkea laatu ovat Naviterin tuotteiden perusta. (Naviter Cosmetics 2015.)

Naviterin omat tuotemerkit ovat BTB13 ja EkoPharma Professional. BTB13 tarjoaa tehokasta hoitoa patentoidulla kantasoluteknologialla. Sarjan tuotteet sopivat etenkin ikääntyvän ihon sekä erilaisista ongelmista kärsivän ihon hoitoon. BTB13-tuotesarjan pohjana on suomalainen patentoitu innovaatio, BTB13-molekyyli, jonka on osoitettu aktivoivan solujen toimintaa sekä suojelevan iho- ja kantasoluja haitallisilta happiradikaaleilta. BTB13-molekyylin vaikuttavat aineet ovat L-karnitiini (BT) ja oroottihappo (B13). (Naviter Cosmetics 2015.)

EkoPharma Professionalin tuotteet hoitavat ihoa suomalaisten luomumarjojen voimalla. EkoPharma Professional on maailman laajin luomulaatuinen ammattikosmetiikkasarja, joka tarjoaa yli 100 tuotetta ihon- ja hiustenhoitoon. Sarja tarjoaa kattavasti tuotteet eri iho- ja hiustyypeille. Kaikille EkoPharma Professional -tuotteille on myönnetty suomalainen FI-Natura - luonnonkosmetiikkasertifikaatti. Tuotteiden raaka-aineiden luomuprosentti on tyypillisesti 60-100% ja raaka-aineista luonnollista alkuperää on 95-100%. (Naviter Cosmetics 2015.)

Omien tuotesarjojen lisäksi Naviter Oy tarjoaa private label - palvelua eli tuotteiden kehittämistä ja valmistusta avaimet käteen -periaatteella. Näin Naviter Oy luo Suomeen uusia yrityksiä ja työpaikkoja. Naviter jakaa osaamistaan ja kokemustaan kosmetiikan valmistajana, minkä ansiosta asiakasyrityksillä on mahdollisuus valmistuttaa pieniäkin tuotantoeriä. (Naviter Cosmetics 2015.)

## 3 Mikrobiologia ja mikrobiit

Mikrobiologia on tieteenala, joka tutkii ja käsittelee mikro-organismeja eli mikroskooppisen pieniä eliöitä ja niiden käyttäytymistä. Mikro-organismit eli mikrobiit ovat laaja ryhmä erilaisia

eliöitä, jotka elävät riippumattomina muista soluista. Yleisen mikrobiologian lisäksi mikrobiologialla on merkittävä rooli alan sovelluksissa esimerkiksi lääketieteessä, maanviljelyssä sekä teollisuudessa. (Madigan, Martinko & Parker 2003, 1.)

Mikrobeja on kaikkialla ympärillämme ja ne ovat tärkeä osa maapallon ekosysteemiä. Vaikka mikrobien joukkoon kuuluu monia haitallisia, muun muassa tauteja aiheuttavia mikrobeja, on osa mikrobeista meille ja ympäristöllemme hyödyllisiä ja jopa elintärkeitä. (Madigan ym. 2003, 2.) Mikrobeja jaotellaan koon, muodon, liikkuvuuden ja käyttäytymisen sekä rakenteellisten erojen mukaan siimoja, kapsleita, itiöitä ja soluseinää tutkimalla. (Butler 2000, 652).

Mikrobeille ominaiset rakenteelliset ja toiminnalliset piirteet ovat avainasemassa niiden tunnistamisessa. Bakteerit ovat mikrobiologisten tutkimusten tärkein kohde (Madigan ym. 2003, 1). Bakteereja voidaan jaotella ja tunnistaa gramvärjäysmenetelmällä. Grampositiivisten bakteerien soluseinä on yksinkertaisempi kuin gramnegatiivisten ja ne värjäytyvät violeteiksi. Gramnegatiiviset bakteerit värjäytyvät punaisiksi ja niiden kehittyneempi soluseinä tekee bakteereista vastustuskykyisempiä esimerkiksi antibiooteille. (Brannan 1997, 25-27.)

Mikro-organismit hyödyntävät ympäristöstään löytyviä ravinteita. Kuten muutkin elävät organismit myös mikrobit tarvitsevat vettä elääkseen. Mikrobien kasvuun vaikuttavat ympäristön kemialliset ja fysikaaliset olosuhteet. Ravinteiden ja veden lisäksi kasvuun vaikuttavat lämpötila, pH sekä happipitoisuus. Eri mikrobilajeilla on erilaiset elinolosuhdevaatimukset. (Orth 2010, 1-3.)

#### 4 Kosmetiikan mikrobiologian historia

Kosmetiikan mikrobiologisen laadun valvonta sai sysäyksen vuonna 1965 kun ruotsalaiset tutkijat paljastivat useiden markkinoilla olevien avaamattomien kosmetiikkatuotteiden sisältävän ei-toivottuja mikro-organismeja. Lisäksi myöhemmissä tutkimuksissa huomattiin, etteivät kaikki tuotteet sisältäneet riittävän hyviä säilöntämekanismeja, jolloin tuotteiden turvallisuus aleni käytettäessä. (Orth 2010, 17-18.) Kontaminaatiot osoittautuivat todelliseksi ongelmaksi myös sairaaloissa, kun desinfiointiaineista ja käsivoiteista peräisin olleet gramnegatiiviset mikrobit aiheuttivat infektioita potilailla (Schlossman 2009, 618).

Useat 1960- ja 1970-luvuilla tehdyt tutkimukset todistivat puutteita kosmetiikkatuotteiden mikrobiologisessa laadussa ja säilöntämekanismien tehossa. Tulosten selvittyä lainsäätäjät sekä kosmetiikan valmistajat ottivat asiakseen parantaa kosmetiikan mikrobiologista laatua.



Seuraavien vuosikymmenten aikana kosmetiikkaa valmistavat yritykset palkkasivat mikrobiologeja huolehtimaan sekä valmistustilojen että tuotteiden puhtaudesta. (Orth 2010, 17.) Eri järjestöt ja päättäjät Euroopassa sekä Yhdysvalloissa laativat ohjeistuksia ja säätivät kosmetiikan mikrobiologista laatua koskevia lakeja (Butler 2000, 649-650). Parannusten ansiosta 1970-luvun puolivälissä suoritettut tutkimukset osoittivat markkinoilla olleiden tuotteiden kontaminaatioasteen laskeneen kahteen prosenttiin kun 1960-luvun loppupuolella aste oli vielä 25 % (Geis 2006, 12).

Euroopan komission laatima kosmetiikkadirektiivi astui voimaan vuonna 1976. Direktiiviin tehtiin useita muutoksia vuosikymmenten aikana, mutta kosmetiikkatuotteiden mikrobiologian kannalta merkittävä muutos tuli voimaan vuonna 1993 kun direktiiviin lisättiin vaatimus tuotetietojen kokoamisesta. Tuotetiedoissa on oltava tiedot tuotteen mikrobiologisesta laadusta eli selvitys käytettyjen raaka-aineiden ja kosmeettisen valmisteen mikrobiologisista ominaisuuksista sekä säilyvyydestin tulokset. (Butler 2000, 650.)

Monet kosmetiikkaa valmistavat yritykset noudattivat jo vapaaehtoisesti hyviä tuotantotapoja, mutta niiden noudattamisesta tuli pakollista kosmetiikkadirektiiviin lisäämisen myötä. 1990-luvun loppupuolella julkaistut mikrobiologisen laadunhallinnan ohjeistukset suosittelevat valmiille kosmetiikkatuotteille tiettyjä mikrobimäärän raja-arvoja ja testausmenetelmiä. Vaikka nämä ohjeistukset eivät ole lakisääteisiä, ovat ne hyödyllisiä ja yleisesti hyväksyttyjä. (Butler 2000, 650.)

## 5 Mikrobit kosmetiikassa

Mikrobit elävät kaikkialla, missä on niille suotuisat olosuhteet. Mikrobit myös kulkeutuvat helposti paikasta toiseen. Tämän takia puhdistus ja desinfiointi ovat tärkeitä toimenpiteitä kosmetiikan valmistuksen kaikissa vaiheissa. (Orth 2010, 167.)

Kosmetiikan ei tarvitse olla steriiliä, mutta mikrobien kasvu tuotteissa on estettävä, jotta tuotteiden laatu ja turvallisuus säilyvät. Vaikka kuluttajien turvallisuuden takaaminen on tärkein päämäärä mikrobiologisessa laadunvalvonnassa, vaikuttavat kontaminaatiot myös tuotteiden toimivuuteen ja esteettisiin ominaisuuksiin (Geis 2006, 165). Mikrobit voivat huonontaa tuotteen laatua aiheuttamalla muutoksia tuotteen väriin, hajuun ja koostumukseen. Kontaminaatio voi ilmetä esimerkiksi faasien erottumisena tai kuplien ja vaahdon muodostumisena. (Rieger 2000, 275.)

Kosmetiikan kontaminaation kannalta oleelliset mikrobit ovat bakteerit, hiivat ja homeet. Näistä tärkeimmät kasvavat noin 4-45 celsiusasteessa; bakteerit parhaiten noin 35 asteessa ja homeet ja hiivat noin 25 asteessa. Mikrobikasvulle suotuisin pH on lähellä neutraalia eli noin pH 5-9. Kosmetiikassa mikrobit voivat hyödyntää ravintonaan raaka-aineina käytettäviä orgaanisia yhdisteitä kuten proteiineja ja hiilihydraatteja. (Orth 2010, 1-2.) Koska mikrobit tarvitsevat kosteutta kasvaakseen, niille suotuisimmat olosuhteet ovat vesipitoisissa ja nestemäisissä tuotteissa, kuten emulsioissa. (Butler 2000, 648, 660.)

Yleisimmin mikrobit päätyvät kosmeettisiin valmisteisiin raaka-aineiden mukana (Schlossman 2009, 628). Kosmetiikassa käytetään monia erilaisia orgaanisia ja epäorgaanisia yhdisteitä, joiden keruu-, valmistus-, käsittely- ja varastointitavat eroavat. Vesipitoiset raaka-aineet tarjoavat mikrobikasvulle suotuisimmat olosuhteet. Luonnosta saatavat raaka-aineet kuten maasta louhittavat mineraalit voivat ymmärrettävästi sisältää pieniä määriä mikrobeja. Myös raaka-aineiden käsittely ja etenkin vesipitoiset käsittelyvaiheet lisäävät mikrobikasvun riskiä. (Orth 2010, 174-175.) Sekä raaka-ainetoimittajien että niitä käyttävien kosmetiikan valmistajien vastuulla on varmistaa, ettei lopputuotteeseen päädy haitallisia mikrobeja raaka-aineiden mukana.

Vesi on kosmetiikan yleisin raaka-aine ja myös yleinen kontaminaation lähde. Mikrobit voivat päätyä veteen vedenjakelun ja varastoinnin eri vaiheissa putkistojen, suodattimien, mittarien ja säiliöiden kautta. Valmistuksessa käytettävän veden puhtauden valvonta on erityisen tärkeää ja valvontaa tulisi suorittaa vedenkäsittelyn eri vaiheissa. Veden mikrobiologinen puhtaus voidaan varmistaa esimerkiksi tislamalla, suodattamalla tai kuumentamalla. (Schlossman 2009, 628-631.)

Henkilöstöllä on tärkeä rooli puhtauden ylläpitäjänä. Henkilöstö huolehtii koko valmistusprosessista ja samalla myös välineiden ja tilojen puhtaudesta. Myös työntekijöiden henkilökohtaisella hygienialla on merkitystä, sillä mikrobit voivat helposti kulkeutua valmistustiloihin ihmisten mukana. On tärkeää, että yritys tarjoaa työntekijöilleen riittävää ja oikeanlaista koulutusta sekä riittävät työvälineet puhtauden ylläpitoon. Esimerkiksi valmistustilojen työntekijöille tulee tarjota asianmukaiset työvaatteet ja suojavarusteet kuten päähineet, käsineet ja hengityssuojaimet. (Geis 2006, 86-88.)

Mikrobien läsnäoloa tuotteessa ei voi aina huomata paljain silmin vaan niiden löytämiseksi on tehtävä mikrobiologisia testejä. Kaikki mikrobit eivät ole haitallisia, mutta jotkut voivat aiheuttaa vakaviakin tauteja ja tulehduksia. Haitalliset mikrobit ovat patogeeneja tai voivat

tietyissä olosuhteissa muuttua patogeenisiksi eli ovat potentiaalisia taudinaiheuttajia. Tällaiset mikrobit voivat esimerkiksi aiheuttaa tulehduksen rikkoutuneella iholla, kun ihon oma suojausmekanismi on heikentynyt. (Butler 2000, 649.) Kosmetiikan todennäköisimpiä taudinaiheuttajia ei saa löytyä valmiista tuotteista lainkaan (Scientific Committee on Consumer Safety 2012, 76).

### 5.1 Kosmetiikan todennäköisimmät taudinaiheuttajat

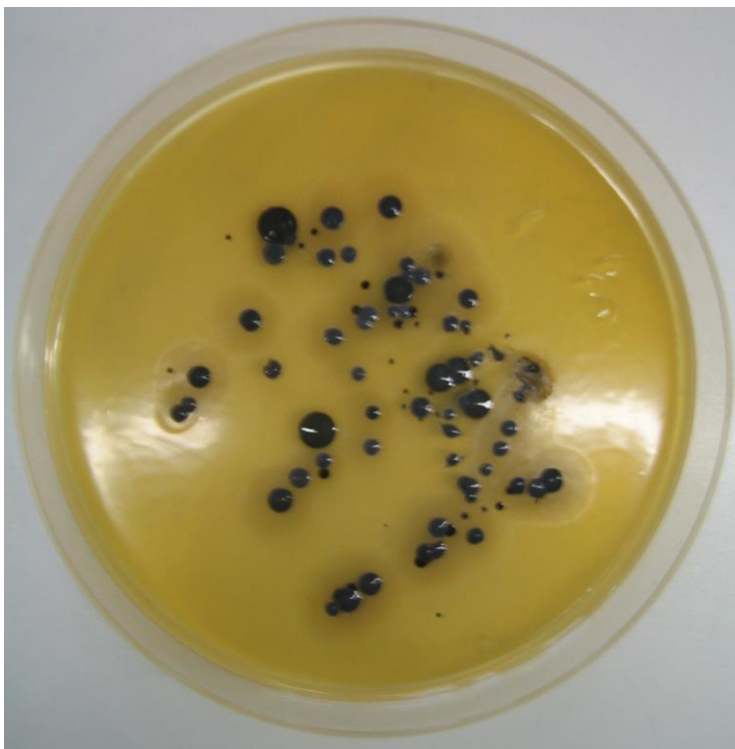
*Pseudomonas*-suvun bakteerit aiheuttavat mikrobeista eniten harmia kosmetiikan valmistajille niin valmistuksen puolella kuin lopputuotteissa. *Pseudomonas* on yksi useimmiten kontaminoituneesta kosmetiikasta löytyvä bakteerisuku. Ne ovat gramnegatiivisia aerobisia eli happea tarvitsevia sauvabakteereita, jotka sopeutuvat tehokkaasti erilaisiin ja muuttuviin olosuhteisiin. (Orth 2010, 263.) Viljelyalustalla *Pseudomonas aeruginosa* -pesäkkeet ovat litteitä, läpikuultavia ja väriltään keltaisen vihertäviä tai sinertäviä (Cosmetics Europe 1997, 8).

Jotkin *Pseudomonas*-suvun bakteereista voivat aiheuttaa vakavia terveysriskejä, minkä takia *Pseudomonas* löydös valmiista kosmetiikkatuotteesta on aina ongelmallinen. *Pseudomonas aeruginosa* -bakteeria on löydetty pieninä määrinä ihmisen ruuansulatuskanavasta sekä iholta. Se ei yleensä aiheuta harmia ihmiselle, sillä bakteerin on vaikea päästä terveeseen ihon läpi. Kuitenkin jos henkilön puolustusmekanismit ovat heikentyneet esimerkiksi sairauden takia, voi *Pseudomonas aeruginosa* aiheuttaa jopa hengenvaarallisia infektoita. Kosmetiikassa *Pseudomonas aeruginosa* on yhdistetty silmätulehduksiin ja jopa näön menetykseen kuluttajilla, jotka olivat käyttäneet kontaminoitunutta ripsiväriä. Bakteeri päätyy kosmetiikkaan useimmiten kontaminoituneen veden tai raaka-aineen mukana. (Orth 2010, 263-265; Butler 2000, 57.)



Kuva 1: *Pseudomonas aeruginosa* -bakteerin pesäkkeitä viljelyalustalla (Wikimedia Commons 2012).

*Staphylococcus aureus* on grampositiivinen pallomainen bakteeri, joka voi elää hapellisissa ja hapettomissa olosuhteissa. *Staphylococcus aureus* -bakteeri on yleinen ihmisen iholla ja nenän limakalvoilla; noin kolmasosa ihmisistä kantaa bakteeria. Terveellä iholla *Staphylococcus aureus* on yleensä huomaamaton, mutta rikkoutuneella iholla se voi aiheuttaa vakaviakin infektioita ja oireita. *Staphylococcus aureus* on yleisimmin ihotulehduksia aiheuttava bakteeri. Mikäli bakteeria löytyy kosmetiikasta, on se todennäköisesti peräisin ihmisestä. (Orth 2010, 213-214.) Viljelyalustalla *Staphylococcus aureus* muodostaa mustia, kiiltäviä ja kuperia pesäkkeitä (Cosmetics Europe 1997, 9).



Kuva 2: *Staphylococcus aureus* -bakteerin pesäkkeitä viljelyalustalla (Wikipedia 2012).

*Candida albicans* -hiivasieni on osa ihmisen normaaliflooraa ja esiintyy yleisesti iholla sekä limakalvoilla. Se ei normaalioloissa aiheuta haittaa, mutta esimerkiksi normaaliflooran tasapainon järkkyyessä *Candida albicans* -hiivasieni voi aiheuttaa erilaisia tulehduksia. Se on yleisin hiivasienitautien aiheuttaja. (Kosek, Mierzejewski & Woźniak-Kosek 2013, 20.) Hiivasienet viihtyvät alhaisessa pH:ssa ja tarvitsevat vain vähän vettä kasvaakseen. Kosmetiikassa hiivasientä löydetään yleisimmin kosteusemulsioista ja -voiteista. (Brannan 1997, 61.) Viljelyalustalla *Candida albicans* -hiivasienen pesäkkeet ovat kuperia, kermamaisia ja väriltään valkoisesta beigeen (Cosmetics Europe 1997, 9).



Kuva 3: *Candida albicans* -hiivasienen pesäkkeitä viljelyalustalla (Wikimedia Commons 2015).

## 6 Mikrobikasvun esto

Kuluttaja luo valmiille tuotteelle suurimman kontaminaatioriskin, joten tuotteiden säilöntä tehdään etenkin valmistuksen jälkeistä käyttöä varten. (Geis 2006, 74,166.) Kontaminaatioriski syntyy kun kosmetiikkatuote altistuu käytössä muun muassa ilman ja ihon mikrobeille. Lisäksi tuotteen säilytysolosuhteet ja käyttötapa voivat edesauttaa mikrobien kasvua. Tuotteet valmistetaan kuitenkin niin, etteivät mikro-organismit pääse kasvamaan niissä normaaleissa ja ennalta odotettavissa käyttöolosuhteissa.

Tuotteita harvoin valmistetaan steriileissä olosuhteissa, joten mikrobiologinen valvonta on välttämätöntä jo valmistusvaiheessa. Tuotannossa mikrobien rajoittamisen kannalta tärkeintä on hyvä hygienia ja puhdistus, joilla varmistetaan, etteivät raaka-aineet, tilat, materiaalit tai niiden kautta lopputuotteet pääse kontaminoitumaan. Tehtaan puhtaanapito on osa hyviä tuotantotapoja, joita tulee noudattaa kosmetiikan valmistuksessa. (Geis 2006, 74,166.)

Kosmetiikan säilönnän pääperiaate on rajoittaa mikrobien kasvua tekemällä olosuhteet niille epäsuotuisiksi poistamalla tekijöitä, joita mikrobit tarvitsevat kasvaakseen, ja lisäämällä kasvua estäviä aineita. Laajasti ajateltuna säilönnän periaatteena on estää mikro-organismien pääsy valmistusprosessiin ja estää niiden kasvu valmistustiloissa puhdistuksen ja steriloinnin avulla sekä tuotteissa kemiallisin ja fysikaalisin keinoin. (Orth 2010, 5.)

Koska mikrobien tarvitsemat kasvutekijät tiedetään, voidaan mikrobien kasvua rajoittaa teke-mällä kosmeettisen valmisteen tarjoamat olosuhteet niille epäsuotuisiksi, esimerkiksi vähen-tämällä vapaan veden määrää tuotteessa. Kun vettä on vain vähän tai se on sidottuna muihin aineisiin, mikrobit eivät pysty hyödyntämään sitä. Myös säätämällä valmisteen pH matalaksi tai korkeaksi voidaan rajoittaa mikrobien kasvua. (Orth 2010, 5-7.)

Kosmetiikan raaka-aineiden on oltava puhtaita, jotta niiden mukana ei kulkeudu ei-toivottuja mikrobeja valmisteeseen. Mikrobit voivat hyödyntää joitakin raaka-aineita ravintonaan, mutta monet aineista toimivat antimikrobisina estäen mikrobien kasvua. Raaka-aine voidaan valita tuotteeseen nimenomaan antimikrobisen ominaisuutensa takia tai aine voi toimia tuotteessa varsinaisen funktionsa lisäksi antimikrobisena tai muuten mikrobikasvua estävänä. Esimerkiksi pinta-aktiiviset aineet, kelatoivat aineet sekä antioksidantit rajoittavat mikrobien kasvua. (Orth 2010, 94.)

Mikrobiologian näkökulmasta kosmetiikkapakkauksen tärkein tehtävä on suojata valmistetta koko tuotteen käyttöajan ajan. Pakkaus suojaa valmistetta kontaminaatiolta sekä estää ylimää-räisen veden pääsyn valmisteeseen. (Orth 2010, 96, 294.) Sekä pakkausmuodolla että -materi-aalilla on merkitystä tuotteen laadun säilymiseen. Parhaiten kontaminaatiolta suojaavat pak-kaukset, jotka estävät käyttäjän suoran kontaktin valmisteeseen sekä valmisteen takaisinvir-tauksen. Pakkausmateriaalin tulee sopia yhteen sisällön kanssa, jotta niiden aineet eivät rea-goiki keskenään. (Dayan & Kromidas 2011, 209-210.)

## 6.1 Säilöntäaineet

Useimmissa tuotteissa ei ole mahdollista asettaa olosuhteita, kuten pH-tasoa tai veden mää-rää, mikrobeille epäsuotuisiksi. Tästä johtuen kosmetiikkatuotteisiin täytyy lisätä säilöntäai-neita, joiden tehtävä on estää mikrobien kasvu valmisteessa. (Brannan 1995, 200-201.) Säilön-täaineiden avulla voidaan taata tuotteiden turvallinen käyttö ja lisätä tuotteiden käyttöikää huomattavasti. Euroopassa sallitut viralliset säilöntäaineet on listattu EU:n kosmetiikka-ase-tuksessa. (Cosmetics Europe.)

Sopivan säilöntäaineen valinta tuotteen kehittäelyvaiheessa ei ole yksinkertaista, sillä valin-taan vaikuttavat monet asiat. Muun muassa valmisteen muut raaka-aineet, pH, pakkaus sekä tuotteen käyttöalue tulee ottaa huomioon säilöntäainetta valittaessa. Ihanteellinen säilöntä-aine toimisi laajalla spektrillä eli tehoaisi erilaisiin mikro-organismeihin, toimisi laajalla pH-

alueella, sopisi hyvin yhteen muiden raaka-aineiden ja pakkauksen kanssa sekä olisi vesiliukoinen, turvallinen ja kustannustehokas. Tällaista säilöntäainetta ei kuitenkaan ole löydetty, joten usein tuotteeseen lisätään useamman säilöntäaineen seos parhaan tuloksen saamiseksi. (Orth 2010, 111-112.)

Säilöntäaineet ovat biosideja eli molekyyliä, joiden tehtävä on häiritä solujen toimintaa ja rakennetta. Vaikka säilöntäaineiden tehtävä kosmetiikassa on vaikuttaa mikrobisoluihin, voivat ne samalla ärsyttää ja herkistää ihoa. (Rieger 200, 300.) Säilöntäaineet ovat hajusteiden ohella merkittävimpiä allergiaa aiheuttavia ainesosia (De Gannes & Hamilton 2011). Niitä tulisi lisätä valmisteisiin juuri optimaalinen määrä niin, että tuotteen mikrobiologinen säilyvyys voidaan taata, mutta samalla tuote on mahdollisimman hellävarainen kuluttajalle.

Säilöntäaineen teho ja tuotteen mikrobiologinen säilyvyys tulee testata tuotteen kehittelyvaiheessa. PET (Preservative efficacy test) tai toiselta nimeltään Challenge-testeillä varmistetaan valmisteen riittävä vastustuskyky valmistuksessa ja käytössä kohdattavia mikrobeja vastaan. Testien avulla voidaan määrittää valmisteelle sopivin säilöntäaine ja sen konsentraatio. (Orth 2013, 4,109.) PET-testejä on erilaisia, mutta periaatteena on altistaa valmiste valituille mikrobeille. Testeissä käytetään eri bakteeri-, hiiva- ja sienikantoja, joiden tartuntaa seurataan 28 päivän ajan. Testistä riippuen näytteestä mitataan bakteerikasvu noin viikon välein. (Schlossman 2009, 633-634.)

## 7 Kosmetiikan mikrobiologinen laadunvalvonta

Mikrobiologinen laadunvalvonta koskee kosmetiikkatuotteen koko elinkaarta. Mikrobiologinen laatu ja säilyvyys otetaan huomioon jo tuotteen suunnitteluvaiheessa. Valvontaa suoritetaan valmistusvaiheessa niin raaka-aineille, materiaaleille kuin valmisteelle. Mikrobiologisia testejä tehdään jo formulointivaiheessa kun määritetään valmisteelle sopivinta säilöntäainetta sekä valmiille tuotteille, jotta varmistutaan, ettei tuote ole päässyt kontaminoitumaan valmistuksen aikana. (Butler 2000, 660-661.) Viimeisimpänä kuluttaja luo tuotteelle kontaminaattioriskin, mutta hyvin valmistettu ja säilötty tuote pystyy säilyttämään laatunsa siitä huolimatta.

Jotta voidaan varmistua kosmeettisen tuotteen mikrobiologisesta laadusta, tulee valmistuksessa tehdä riittävää laadun testaamista ja valvontaa läpi tuotantoketjun. Ainoastaan valmiiden tuotteiden mikrobiologisen laadun testaaminen ei riitä vaan valvonnan tulee olla jatkuvaa. Valmiin kosmetiikan mikrobiologinen testaus on vain koko tuotantoprosessia koskevien hyvien tuotantotapojen täytäntöönpanon mitta. Mikäli valmiin tuotteen laatutestissä ilmenee

mikrobikontaminaatio, on se selvä merkki koko tuotantoketjun valvonnan riittämättömyydestä. Kontaminaatiolähde tulee selvittää välittömästi ja korjata tilanne. (Knowlton & Pearce 1993, 448.)

### 7.1 Lait ja ohjeistukset

Kosmeettisten valmisteiden on oltava turvallisia normaaleissa ja kohtuudella ennakoitavissa käyttöolosuhteissa (EU:n kosmetiikka-asetus 1223/2009). Kosmetiikan ei tarvitse olla steriiliä, mutta tietyt yleisesti hyväksytyt mikrobien määrälliset ja laadulliset raja-arvot on annettu. Jokaisen valmistuserän mikrobiologinen laatu tulee testata, jottei markkinoille saateta mikrobiologisesti kontaminoituneita tuotteita. Ainoastaan valmisteet, jotka eivät tue mikrobikasvua, esimerkiksi korkean alkoholipitoisuuden takia, voidaan vapauttaa testaamiselta. (Scientific Committee on Consumer Safety 2012, 75.)

Valmiista kosmetiikkatuotteesta täytyy määrittää elävien aerobisten ja mesofiilisten mikrobien kokonaismäärä (Scientific Committee on Consumer Safety 2012, 75). Määritettävät mikrobit siis tarvitsevat happea elääkseen ja mesofiilinen viittaa mikrobien lisääntymislämpötilaan. Mesofiiliset mikrobit lisääntyvät parhaiten 30-37 celsiusasteessa, eli lähellä ihmisen elimistön lämpötilaa. (Elintarviketurvallisuusvirasto Evira 2013.)

Sallittu mikrobien kokonaismäärä on eri riippuen tuotteen käyttötarkoituksesta. Tuotteet voidaan jakaa kahteen eri ryhmään, joista 1. ryhmään kuuluvat kosmeettiset tuotteet, jotka on tarkoitettu käytettäväksi silmäalueella, limakalvoilla tai rikkoutuneella iholla tai joiden kohderyhmänä ovat alle kolmevuotiaat, vanhukset tai henkilöt, joiden immuunijärjestelmä on heikentynyt. Nämä tuotteet saavat sisältää enintään 100 pesäkettä muodostavaa yksikköä (pmy) millilitrassa tai grammassa tuotetta. Toiseen ryhmään kuuluvat muut kosmeettiset tuotteet, jotka saavat sisältää enintään 1000 pesäkettä muodostavaa yksikköä millilitrassa tai grammassa tuotetta. (Scientific Committee on Consumer Safety 2012, 75.)

Kosmetiikan todennäköisimpiä taudinaiheuttajia eli *Pseudomonas aeruginosa*-bakteeria, *Staphylococcus aureus*-bakteeria tai *Candida albicans*-hiivasientä ei saa esiintyä kosmeettisissa tuotteissa lainkaan. Näitä todennäköisiä taudinaiheuttajia ei saa löytyä millilitrasta tai grammasta ryhmän yksi tuotteita eikä 0,1 millilitrasta tai 0,1 grammasta ryhmän kaksi tuotteita. (Scientific Committee on Consumer Safety 2012, 76.)



Kategoria	Kvantitatiivinen erittely	Kvalitatiivinen erittely
1. •silmäalue •limakalvot •rikkoutunut iho •alle kolme vuotiaat •vanhukset •henkilöt, joiden immuunijärjestelmä on heikentynyt	elävien aerobisten ja mesofiilisten mikrobien kokonaismäärä enintään 100 pmy/ml tai g tuotetta	Ei <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> tai <i>Candida albicans</i> havaintoa/ml tai g tuotetta
2. •muut tuotteet	elävien aerobisten ja mesofiilisten mikrobien kokonaismäärä enintään 1000 pmy/ml tai g tuotetta	Ei <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> tai <i>Candida albicans</i> havaintoa/0,1ml tai 0,1g tuotetta

Taulukko 1: Kosmetiikkatuotteiden mikrobien kvantitatiiviset ja kvalitatiiviset raja-arvot (Scientific Committee on Consumer Safety 2012, 75-76).

EU:n kosmetiikka-asetuksen (1223/2009) mukaan kosmeettisen tuotteen vastuuhenkilöllä on oltava hallussaan tuotekohtaiset tuotetiedot kaikista markkinoille saatetuista valmisteista. Tuotetiedot sisältävät muun muassa kosmeettisen valmisteen turvallisuusselvityksen. Turvallisuusselvityksessä on oltava tiedot tuotteen mikrobiologisesta laadusta eli selvitys käytettyjen raaka-aineiden ja kosmeettisen valmisteen mikrobiologisista ominaisuuksista sekä säilyvyystestin tulokset.

Eurooppalainen kosmetiikkateollisuuden järjestö Cosmetics Europe on julkaissut ohjeistuksen koskien mikrobiologista laadunhallintaa. Guidelines on Microbial Quality Management (1997) käsittelee tuotekehitystä, raaka-aineita, valmiita tuotteita, hyviä tuotantotapoja ja dokumentointia sekä esittelee valmiille tuotteille suositeltuja mikrobiologisia raja-arvoja ja testausmenetelmiä. Ohjeistuksen tavoitteena on helpottaa kosmetiikan tuotannon ja tuotekehityksen parissa työskenteleviä säilyttämään hyvä mikrobiologinen laatu läpi kosmetiikan tuotantoketjun.

EU:n kosmetiikka-asetuksen (2009) kahdeksannen artiklan mukaan kosmeettiset tuotteet on valmistettava hyvän tuotantotavan mukaisesti. Hyvän tuotantotavan vaatimukset saavutetaan kun valmistus on tapahtunut asiaankuuluvien yhtenäistettyjen standardien mukaisesti. ISO 22716-standardi hyvistä tuotantotavoista koskee koko tuotantoprosessia raaka-aineista valmiisiin tuotteisiin asti. Se ohjeistaa kosmeettisen valmisteen tuotantoa, tarkastusta, varastointia

sekä toimittamista ja kattaa näin sekä tuotteen laatua että turvallisuutta koskevat tekijät. Standardissa on viisi pääkohtaa, jotka koskevat laadunhallintaa, tiloja ja laitteita, materiaalien hallintaa, poikkeustapausten hoitamista sekä jatkuvaa pyrkimystä kehitykseen. (De Boer 2014, 9.)

Kosmetiikan mikrobiologista laadunvalvontaa koskevia standardeja on useita. Standardeilla helpotetaan ja järjeistetään toimintaa sekä varmistetaan, että menetelmät sopivat siihen tarkoitukseen, joihin ne on suunnattu (Suomen Standardiliitto SFS Ry). Mikrobiologista laadunvalvontaa koskevat ISO-standardit ovat:

- ISO 21148 General instructions for microbiological examination
  - ISO 21149 Enumeration and detection of aerobic mesophilic bacteria
  - ISO 29621 Guidelines for the risk assessment and identification of microbiologically low-risk products
  - ISO 17516 Microbiological limits
  - ISO 18415 Detection of specified and non-specified microorganisms
  - ISO 18416 Detection of *Candida albicans*
  - ISO 16212 Enumeration of yeast and mould
  - ISO 21150 Detection of *Escherichia coli*
  - ISO 22716 Guidelines on Good Manufacturing Practices
  - ISO 22717 Detection of *Pseudomonas aeruginosa*
  - ISO 22718 Detection of *Staphylococcus aureus*
- (ISO, the International Organization for Standardization).

## 8 Testausmenetelmät

Sekä ISO-standardit että Cosmetics European ohjeistus antavat ohjeita kosmetiikan mikrobiologisen laadun testaukseen. Koska juridista tai yleismaailmallista mikrobiologisen laadun testausmenetelmää ei ole, on yrityksellä vapaus päättää miten testit suoritetaan ja yritys on vastuussa tuotteidensa riittävästä puhtaudesta ja säilönnästä. Sekä testausmenetelmä että tulokset tulee olla kirjattuna tuotetietoihin (Scientific Committee on Consumer Safety 2012, 75).

Valmiiden kosmetiikkatuotteiden mikrobiologisen laadun testausmenetelmän tulee olla mahdollisimman tarkka ja luotettava, sillä testattaessa tuotteisiin ei lisätä mikrobeja vaan ainoastaan havaitaan valmisteessa olevat elävät mikrobit. Menetelmän tulee elvyttää sekä terveiden ja elinvoimaisten että vahingoittuneiden tai stressaantuneiden mikrobien kasvu. Mikäli testausmenetelmä ei ole tarpeeksi tehokas stressaantuneiden mikrobien havaitsemiseen, voivat

mikrobit alkaa kasvaa valmisteessa myöhemmässä vaiheessa ja aiheuttaa ongelmia. (Orth 2010, 306-307.)

### 8.1 Perinteiset menetelmät

Pisimpään käytetyt kosmetiikan mikrobiologisen laadun testausmenetelmät ovat maljaviljely ja rikastus (Brannan 1997, 115). Maljaviljelyssä mikro-organismeja kasvatetaan ravinneriik-  
kailla pinnoilla niin, että saadaan silmin havaittavia pesäkkeitä, joita voidaan visuaalisesti tarkastella, laskea sekä tunnistaa. Rikastusmenetelmässä puolestaan rikastusliemen tarjoamat kasvuolosuhteet tehdään sellaisiksi, että ne suosivat halutun mikrobityypin kasvua estäen samalla muiden lajien kasvun. Maljaviljely sopii siis sekä mikrobien kokonaismäärän että haluttujen mikrobien selvittämiseen näytteestä, kun taas rikastusmenetelmä sopii tietyn mikrobilajin havaitsemiseen. (Madigan ym. 2003, 146-147, 615.)

Koska valmiissa kosmetiikkatuotteessa on lähes aina mikrobien kasvua estävä säilöntäaine, täytyy tuotteen näyte neutralisoida niin, ettei säilöntäaine estä tutkittavien mikrobien kasvua ja vääristä tuloksia. Sopiva neutralisoija riippuu tuotteen säilöntäaineista ja neutralisoijan teho tulee aina testata. Sopiva neutralisoija tekee tuotteen säilöntäaineet tehottomiksi, mutta ei ole haitallinen mikro-organismeille ja niiden kasvuille. Pelkkä oikeanlainen näytteen laimentaminen voi riittää säilöntäaineen inaktivointiin, mutta näyte voidaan neutralisoida myös kemiallisesti yhtä tai useamman aineen seosta käyttäen. Neutralisointi voidaan tehdä myös kalvosuodatuksella, jossa bakteerit eristetään kalvolle, josta säilöntäaine poistetaan huuhtelemalla. (Brannan 1997, 113-114.)

Jotta tuotteessa olevat mikro-organismit saadaan laskettavaan muotoon, täytyy tuotteen näyte laimentaa. Laimennoksen suhde voi olla esimerkiksi 1:10, jolloin gramma tai millilitra tuotetta laimennetaan yhdeksään millilitraan laimenninta. Jähmeät ja jauhemaiset tuotteet täytyy liuottaa tai hajottaa laimentimeen esimerkiksi lämmön tai kemiallisen aineen avulla. Homogenisoitu laimennos levitetään viljelyalustalle, joka sisältää mikrobeille sopivat kasvuolosuhteet ja mahdollistaa vahingoittuneidenkin mikro-organismien elpymisen. (Brannan 1997, 116-117.) Viljelyalustoina käytetään useimmiten petrimaljoja, joihin on lisätty hyytelmäistä polysakkaridiseos agaria. Agar tekee viljelyalustasta jähmeän ja siihen voidaan lisätä tarvittavia ravinteita ja lisäaineita, joita tutkittava mikrobi hyödyntää kasvaessaan. (Butler 2000, 678-679.)

Maljaviljelyssä voidaan käyttää kahta viljelytekniikkaa; maljavalutekniikkaa tai pintalevitystä. Maljavalutekniikassa laimennos pipetoidaan petrimaljan pohjalle ja sen päälle levitetään sula

agar, joka jähmettyy jäähtyessään. Pintalevityksessä nestemäinen laimennos levitetään jähmettyneelle agarpinnalle. Viljelytekniikasta riippuen näytettä levitetään maljalle joko noin yhden millilitran tai 0,1 millilitran suuruinen määrä. Viljeltyjä maljoja pidetään lämpökaapissa eli inkuboidaan 33-37 asteen lämpötilassa muutaman päivän ajan. Hiivojen ja homeiden kasvatus vaatii matalamman lämpötilan ja pidemmän inkubointiajan, jopa viikon. (Brannan 1997, 117, 151.)

Maljaviljelyssä tavoitteena on saada mikrobit viljeltyä kasvatusalustalle niin, että yksittäiset mikrobisolut muodostavat pesäkkeitä, jotka voidaan laskea ja tunnistaa. Koska viljelyssä käytetään tuotteiden laimennoksia, saatavat tulokset on kerrottava laimennussuhdetta vastaavalla luvulla. (Madigan ym. 2003, 146.)

Perinteisten testausmenetelmien yksi merkittävimmistä heikkouksista on testien suorittamisen hitaus. Pelkkään näytteiden inkubointiin menee päiviä tai jopa viikko ja lisäksi pesäkkeiden laskeminen ja tunnistaminen viljelmistä on aikaa vievää ja työlästä. (Orth 2010, 315.) Pesäkeluvulla saadaan lähinnä karkea arvio näytteen sisältämistä mikrobeista. Metodi on säilyttänyt suosionsa vuosikymmenten ajan, mutta kosmetiikan mikrobiologisissa tutkimuksissa tulisi käyttää luotettavampia ja tarkempia metodeja. (Brannan 1997, 115-116.) Menetelmällä saatavat tulokset voivat helposti vääristyä mikäli vahingoittuneet mikro-organismit eivät ala kasvamaan tai jos laskettavat pesäkkeet ovatkin muodostuneet useammasta kuin yhdestä mikrobia.

## 8.2 Modernit menetelmät

Perinteisten menetelmien hitaus, työvoiman tarve sekä kustannukset ovat johtaneet uusien testausmenetelmien ja laitteiden kehittelyyn. Uudet menetelmät ovat suurelta osin lähtöisin elintarvike- ja lääketeollisuuden puolelta, mutta ovat enenevässä määrin käytössä myös kosmetiikan testauksessa. Uusia nopeampia ja tehokkaampia laitteita pyritään kehittämään jatkuvasti. (Rapid Test Methods Ltd, 2001-2015.)

Mikro-organismien havaitsemiseen ja tunnistamiseen kehitetyt nopeat testausmenetelmät hyödyntävät mikrobisolujen aineenvaihduntaa eri tavoin. Laitteet havaitsevat mikro-organismeja muun muassa kemiallisen valon, värjäytymisen sekä mikrobikasvun aiheuttamien biokeemiallisten muutosten avulla. Jotkin laitteet myös yhdistävät useaa eri tekijää, esimerkiksi valonmuodostusta ja värjäytymistä. (Rapid Test Methods Ltd, 2001-2015.)

Uudet tekniikat ja laitteet havaitsevat mikrobipesäkkeet kasvualustoilta paljon ennen kuin ihmissilmä pystyy niitä näkemään ja joillakin laitteilla voidaan havaita jopa yksittäisiä soluja pesäkkeiden sijaan. Tällöin testien suorittamiseen kuluva aika lyhenee huomattavasti, kun pesäkkeiden muodostumista ei tarvitse odottaa. Monet uusista testausmenetelmistä perustuvat edelleen maljaviljelyyn ja rikastukseen, mutta testausmenetelmien mikrobien havaitseminen on nopeaa, mikä tekee testauksesta perinteisiä menetelmiä kustannustehokkaampaa. (Rapid Test Methods Ltd, 2001-2015.)

#### 8.2.1 Kasvualustan muutoksiin pohjautuvat testausmenetelmät

Mikrobikasvun ja aineenvaihdunnan myötä niiden ympäristössä tapahtuu muutoksia, esimerkiksi pH muuttuu ja ympäristön hiilidioksidipitoisuus kasvaa. Yritykset ovat kehittäneet erilaisia kasvualustoja, joiden väri muuttuu mikrobikasvun aiheuttamien muutosten myötä. Kasvualustoja tarkkailevat automatisoidut laitteet analysoivat värimuutosta ja sen kautta mikrobien kokonaismäärää tai tietyn mikrobilajin kasvua. (Rapid Test Methods Ltd, 2001-2015.)

Mikrobikasvu aiheuttaa muutoksia myös kasvualustan sähkövarauksessa. Kun mikrobit hyödyntävät viljelyalustan ravinteita, ne pilkkovat ravinteet pienemmiksi molekyyleiksi, joilla on suurempi sähkövaraus. Tämä johtaa viljelmän impedanssin eli sähkövastuksen nousuun, mikä voidaan mitata johtamalla sähkövirtaa viljelmän läpi. Metodia käytetään mikrobien kokonaismäärän sekä tietyn ryhmän mikrobien, kuten anaerobien, havaitsemiseen. Tietyn mikrobilajin tunnistamisessa hyödyllisempää on tutkia kasvuston sähkönjohtokykyä. Testauksessa voidaan käyttää hyödyksi myös mikro-organismien sähkönvarauskykyä. Esimerkiksi hiivat ja homeet aiheuttavat vain vähän muutosta kasvualustansa impedanssiin, mutta sähkönvaraukseen niiden kasvulla on havaittava vaikutus. (Buttler 2000, 681-682; Orth 2010, 318-319.)

Mikrobikasvun aiheuttamiin muutoksiin pohjautuvat menetelmät vaativat aina riittävän inkubointiajan niin, että mikrobikasvu lisääntyy ja tuottaa muutoksia kasvualustaan. Tarvittava inkubointiaika riippuu tutkittavasta mikrobista, mutta kasvualustan muutoksia mittaavat laitteet analysoivat näytteet noin 20-48 tunnin sisällä. Näytteet, joissa mikrobimäärät ovat suuria, voidaan hylätä nopeamminkin. (Buttler 2000, 681-682.)

#### 8.2.2 Fluoresenssiin perustuvat menetelmät

Kaikki elävät solut tuottavat pienen määrän fluoresenssia eli fluoriloistetta, joka voidaan havaita valona. Näyte valaistaan yhdenvärisellä ultraviolettivalolla, jonka mikrobisolut ensin absorboivat ja myöhemmin vapauttavat toisenvärisenä. Soluissa voi olla luonnostaan fluoresoivia

aineita tai niitä voidaan värjätä fluoresoivilla väriaineilla. (Rapid Test Methods Ltd, 2001-2015; Madigan ym. 2003, 60.)

Autofluoresenssia hyödyntävät laitteet sopivat etenkin näytteille, jotka voidaan kalvosuodattaa, sillä kalvosuodatuksella varmistetaan, että havaittu säteily syntyy mikrobisolusta. Autofluoresenssi-ilmiötä hyödynnetään myös virtaussytometrilaitteissa. Laitteen tarkka sensori havaitsee yksittäiset fluoresoivat mikrobisolut nestemäisestä virtaavasta näytteestä. Virtaussytometritestaus ei aina vaadi näytteen rikastusta, mutta se sopii vain nestemäisille näytteille. (Rapid Test Methods Ltd, 2001-2015.)

### 8.2.3 Molekyylibiologiset testausmenetelmät

ATP (adenosiinitrifosfaatti) on molekyyli, joka toimii solujen energian välittäjänä. Kaikki elävät organismit tuottavat ATP:tä, myös bakteerit, hiivat ja homeet. Kosmeettisten näytteiden sisältämien mikrobisolujen kokonaismäärää voidaan tutkia ATP:tä hyödyntämällä. Koska ATP on stabiili vain solun sisällä, sen määrä näytteessä on verrannollinen näytteen sisältämään mikrobimäärään. ATP voidaan havaita näytteistä hyödyntämällä bioluminesenssi-ilmiötä, eli kemiallista valontuotantoa. Näytettä käsitellään niin, että ATP vapautuu soluista liuokseen. Lisäämällä liuokseen lusiferaasientsyymiä ja sen substraattia lusiferiinia saadaan aikaan kemiallinen reaktio, joka tuottaa mitattavaa valoa. (Butler 2000, 682; Orth 2010, 317.)

ATP-mittalaitteet mittaavat parhaiten kun pesäkkeitä muodostavia mikrobeja on näytteessä yli 10 000/g. Tämä ei kuitenkaan riitä kosmeettisten valmisteiden testaamiseen, sillä mikrobien korkein sallittu määrä valmiissa tuotteessa on 1000 pmy/g. Tästä johtuen ATP-mittaus vaatii yleensä näytteen rikastamisen, jolloin mikrobimäärä kasvaa tasolle, jonka ATP-laitteet voivat mitata. Rikastaminen myös aktivoi mikrobisolujen aineenvaihduntaa ja tehostaa ATP-mittauksia. (Baird & Bloomfield 1996, 226.) Näytteiden rikastaminen tai vaihtoehtoisesti kalvosuodattaminen takaavat myös sen, että syntyvä valo on peräisin näytteen mikrobeista. Laitteet mittaavat näytteen ATP-molekyyleistä syntyvän valon kokonaisuudessaan, joten virhetulosten välttämiseksi erityisesti kosmeettiset valmisteet, jotka sisältävät kasviperäisiä raaka-aineita, on valmisteltava huolella ennen mittauksen suorittamista. (Rapid Test Methods Ltd, 2001-2015.)

Nopeimmat ATP:n bioluminesenssiä mittaavat laitteet lupaavat tulokset jopa 24 tunnin sisällä. Tällaiset laitteet selvittävät vain mikrobien läsnäolon näytteessä. Toimintamallin logiik-

kana on, että mikäli näytteessä ei kasva minkäänlaisia mikrobeja, ei siellä kasva patogeenejäkään. Mikrobiologisesti puhtaat tuotteet voidaan näin vapauttaa myyntiin hyvin nopeasti. (Orth 2010, 318.)

Mikrobeja tunnistetaan myös DNA-molekyylien avulla. Mikrobeista eristettyä DNA:ta monistetaan polymeerasiketjureaktiolla (PCR). PCR-laitteet monistavat tiettyä DNA:n pätkää, minkä kautta mikrobit voidaan tunnistaa. Laitteilla voidaan tutkia tietyn mikrobilajin esiintymistä näytteessä, esimerkiksi patogeenejä. (Jimenez 2001, 671.) DNA:n pätkää tunnistetaan myös koettimien avulla. Ne tunnistavat DNA:n emäsjärjestystä samaan tapaan kuin viivakoodinlukija viivakoodia. Koettimet tunnistavat vain sen mikrobin DNA:ta, jota ne on suunniteltu tunnistamaan, eivätkä välitä näytteen muista aineista. (Kaukua & Mustajoki 2008.)

### 8.3 Validointi

Huolimatta siitä, mitä metodologia yritys käyttää tuotteiden mikrobiologisen laadun testaamisessa, tulee prosessi validoida. Validointi tulee tehdä aina kun yritys ottaa käyttöön uuden metodin tai käytettyyn metodiin tehdään muutoksia. Validointi on prosessi, joka varmistaa, että käytetty testausmenetelmä testaa juuri haluttuja asioita ja takaa testien tehokkuuden, tarkkuuden sekä toistettavuuden. Vaikka yritys käyttäisi mikrobiologisen laadun määrittämiseen perinteisiä ja ohjeistettuja menetelmiä, tulee ne validoida juuri yrityksen valmistamien tuotteiden testaamiseen sopiviksi. (Brannan 1997, 127, 134.)

Tärkeä osa validointiprosessia on sen dokumentointi. Yrityksen tulee tallentaa validoinnin tuloksista dokumentti, josta löytyvät tiedot siitä, miten testausprosessi toimii ja miten haluttuja tietoja saadaan kerättyä. Validointiprosessi voidaan jakaa viiteen eri vaiheeseen, joista ensimmäisessä määritellään mitä testausmenetelmän tulisi tehdä. Toisessa vaiheessa tunnistetaan, ja mikäli mahdollista, kontrolloidaan muuttujia. Kolmannessa vaiheessa asetetaan hyväksymisperusteet. Lopuksi kehitetään ja pannaan käytäntöön protokolla, jonka avulla varmistetaan, että menetelmä täyttää edellä asetetut kriteerit ja dokumentoidaan menetelmä ja tulokset. (Brannan 1997, 127-128.)

Kosmetiikkatuotteiden mikrobisisältöä määritettäessä etenkin käytetyt menetelmät, materiaalit sekä välineet tulee todistaa tehokkaiksi. Testien toistettavuuden arviointi on tärkeää ja testausprosessi tulisikin dokumentoida tarpeeksi yksityiskohtaisesti niin, että ulkopuolinenkin pystyisi testin suorittamaan. Valmistajan tulee validoida mikrobiologiset testausmenetelmät jokaiselle tuotteelle tai tuoteperheelle. Esimerkiksi perinteisessä maljaviljelymenetelmässä

validoitavia tekijöitä ovat neutralisointiaine ja laimennuskerroin, käytetty viljelytekniikka sekä inkubointiaika ja -lämpötila. (Brannan 1997, 132, 134.)

## 9 Selvitystyön toteutuksen kuvaus

Selvitystyön toteutus aloitettiin kartoittamalla toimeksiantajayrityksen tarpeet yhdessä yrityksen toimitusjohtajan kanssa. Yrityksen toiveena oli löytää mahdollisimman nopea, helppo ja käyttäjäystävällinen ratkaisu, joka mahdollistaisi yrityksen valmistamien valmiiden kosmetiikkatuotteiden mikrobien kvantitatiivisen ja kvalitatiivisen määrityksen. Yritys valmistaa paljon pieniä tuote-eriä, joiden tuotemuodot vaihtelevat. Olisi ihanteellista saada testaus suoritettua nopeasti yrityksen omissa tiloissa sen sijaan, että näytteet lähetetään muualle tutkittavaksi. Tällöin tuote-erät voitaisiin vapauttaa myyntiin ilman nykyisin käytetyn menetelmän tuomaa viivettä.

Selvitystyötä alusti kattava tutustuminen kosmetiikan mikrobiologisen laadun testausmenetelmiin. Tämä oli tarpeen, koska testausmenetelmät eivät olleet työn toteuttajalle entuudestaan tuttuja. Etenkin moderneihin testausmenetelmiin tutustuttiin huolella, jotta osattiin etsiä laitteita ja välineitä, jotka sopisivat toimeksiantajayritykselle.

Markkinoilla olevia nopean mikrobiologisen testauksen mahdollistavia laitteita ja välineitä etsittiin erilaisten internetin hakupalveluiden avulla. Haussa hyödynnettiin sekä testausmenetelmien teknologiaa että teoriapohjan lähteissä mainittuja yritystietoja. Myös palveluntarjoajiin oltiin yhteydessä, jotta voitiin verrata laitteistojen ja välineiden hankinnan kannattavuutta ulkoistettuun testauspalveluun. Sekä ulkomaalaiset että suomalaiset yritykset otettiin huomioon.

Hakukoneiden tarjoamien sivustojen kautta tutustuttiin tarkemmin yrityksiin ja heidän tarjoamiin laitteistoihin ja välineisiin. Potentiaalisiin laitevalmistajiin, -maahantuojaan ja palveluntarjoajiin oltiin yhteydessä yritysten www-sivujen yhteydenottolomakkeiden ja sähköpostin kautta. Yrityksiltä pyydettiin lisätietoja laitteista, välineistä ja palveluista sekä hinta-arvio kustannuksista.

Toiminnallisessa osuudessa lähestyttiin yhteensä lähemmäs 30 yritystä, joista noin puolelta saatiin jonkinlainen vastaus. Tarvittuja selventäviä lisätietoja kerättiin edelleen sähköpostiviestein. Toiminnallisen osuuden tavoitteena oli saada selville perustietoja laitteista ja väli-



neistä; niiden toimintamallista, edellytetyistä näytteen esivalmisteluista, soveltuvuudesta erilaisten kosmeettisten valmisteiden testaamiseen, näytteiden analysointiajasta sekä suuntaa antava hinta-arvio. Yrityksiltä saatiin tietoja hyvin vaihtelevasti.

Toiminnallisen osuuden suurin haaste oli saada yrityksiltä kaikki tarvittavat tiedot, jotta laitteiden soveltuvuutta toimeksiantajayritykselle voitaisiin perusteellisesti pohtia. On ymmärrettävää, että lopulta moni asia vaikuttaa laitteiston tai välineen soveltuvuuteen, mutta jopa perustietojen saaminen yrityksiltä vei yllättävän kauan tai vastausta ei saatu lainkaan. Joitakin vastauksia kuitenkin saatiin ja saaduista tiedoista koottiin toimeksiantajayritykselle kirjallinen raportti. Toiminnallisen työn tuloksissa esitellään toimeksiantajayrityksen mahdollisuuksia toteuttaa kosmetiikan mikrobiologisen laadun testaus sekä tarkemmin yritykselle soveltuvia laitteistoja. Laitteistojen nimet ja valmistajatiedot on jätetty tarkoituksella pois, mutta tiedot ovat yhteistyöyrityksen tiedossa.

## 10 Selvitystyön tulokset

Yritys voi suorittaa mikrobiologiset testit itse tai ostaa palvelun toiselta yritykseltä. Jos yritys haluaa suorittaa testit omissa tiloissaan, tulee yrityksessä olla siihen soveltuva laboratorio sekä asianmukaisesti koulutettu henkilö testejä suorittamaan (Detmer, Jørgensen & Nylén 2010, 23). Oikeanlaiset tilat ja pätevä henkilökunta takaavat testien onnistumisen ja luotettavien tulosten saannin. Koska mikrobiologiset testit ovat luonteeltaan hyvin herkkiä, jokainen vaihe aina kasvualustojen valinnasta käytettyyn inkubointiaikaan ja -lämpötilaan vaikuttavat testien onnistumiseen. Koulutetun mikrobiologin tulisi testata vähintään kymmenen ensimmäistä tuotantoerää hyvin perusteellisesti ja validoida jokaiselle tuotteelle sopivin metodi (Knowlton & Pearce 1993, 448).

Testien suorittamiseen tarvittavat välineet riippuvat valitusta testimetodista. Maljaviljely ja rikastus ovat lähes kaikkien metodien perustana, joten testitavasta riippumatta viljelyalustat tai rikastusliemet sekä neutralisointi- ja laimennusaineet ovat tarpeen. Yritys voi valmistaa viljelyalustat ja rikastusliemet tai ostaa ne valmiina toiselta yritykseltä. Useat testilaitteet vaativat niihin suunnitellut rikastus- tai viljelyalustat, jotka tulee hankkia laitevalmistajalta. Näytteiden inkubointi on tärkeä vaihe valitusta metodista riippumatta, joten yrityksen laboratorion tulisi löytyä käyttöön soveltuva inkubointikaappi.

Kosmetiikan testaamiseen tarkoitettujen nopeiden testilaitteiden avulla tulosten saanti nopeutuu huomattavasti, mutta laitteiden saatavuus on vielä melko rajallista. Kosmeettisten

valmisteiden tuotemuotojen vaihtelevuus mahdollistaa kuitenkin muiden alojen, kuten lääketieteessä käytettyjen testausvälineiden soveltuvuuden myös kosmetiikan testaamiseen. (Rapid Test Methods Ltd, 2001-2015.) Laitteiden alkuinvestointi voi olla suuri, mutta lopulta jatkuva testaus voi tulla kannattavammaksi kuin perinteisillä menetelmillä tai palveluna ostettuna (Butler 2000, 681).

### 10.1 Laitteisto 1

**Teknologia:** Mittaa kasvualustan impedanssin eli sähkövastuksen muutoksia. Ravinnealusta ja siihen lisätty nestemäinen näyte inkuboidaan laitteiston mittauslokerossa. Mikro-organismien kasvun aiheuttamat aineenvaihduntatuotteet muuttavat näytteen impedanssia, jota mitataan automaattisesti. Koko mittausprosessi on hyvin automatisoitu ja tulokset näkyvät selvästi laitteen näytöllä.

Kun näyte on arvioitu, mittauslokero voidaan täyttää välittömästi uudella näyteputkella. Järjestelmä tallentaa tulokset automaattisesti sähköiseen tietokantaan. Valmistaja tarjoaa laajan valikoiman laitteistoon sopivia valmiita ravinnealustaputkia.

**Esivalmistelut:** Näytteen homogenisointi ravinnealustaan, tarvittaessa myös erillinen näytteen inkubointi ennen laitteiston suorittamaa analysointia.

**Kapasiteetti:** Analysoi jopa 64 näytettä samanaikaisesti. Mahdollisuus inkuboida näytteitä samanaikaisesti kahdessa eri lämpötilassa, 0-55 celsiusasteessa. Soveltuu sekä mikrobien kokonaismäärän että patogeenien määrittämiseen.

**Analysointiaika:** 24 tuntia, hiivat ja homeet 48-72 tuntia

**Hinta-arvio:** Noin 45 000€

### 10.2 Laitteisto 2

**Teknologia:** Patogeenien määrittäminen näytteestä DNA:ta hyödyntämällä. Laitteisto koostuu testilevyistä ja niille tarkoitetuista inkubointikaapista ja alustasta. Lisäksi näytteiden käsittely vaatii sentrifugin ja magneettisekoittajan.

Testilevyt tunnistavat koettimien avulla vain tietyn mikrobin näytteestä. Hyvin tarkka testaus-tapa, joka ei vaadi aiempaa kokemusta molekyylibiologisten testien suorittamisesta. Testi

voidaan suorittaa kaiken tyyppisistä esikäsitellyistä näytteistä, joiden on todettu sisältävän mikrobeja, muun muassa impedanssi-analyysin nestemäisestä ravinnealustasta tai maljaviljelyllä saadusta pesäkkeestä.

Kapasiteetti: Yksi levy testaa yhden näytteen yhden patogeenin osalta.

Analysointiaika: Valmiiksi esikäsitellyistä näytteistä tulos saadaan jopa puolessa tunnissa.

Hinta-arvio: Yksi testilevy per patogeeni noin 5€ kappale. Lisäksi vaatii alkuinvestointina muut tarvittavat laitteet.

### 10.3 Laitteisto 3

Teknologia: Määrittää mikrobien läsnäolon näytteessä ATP:tä hyödyntämällä. Laitteen patentoitu toimintamalli saa mikrobien sisältämän ATP:n lisääntymään näytteessä nopeasti jopa 1000-kertaiseksi, jolloin sen havaitseminen on tehokkaampaa ja nopeampaa. Mikrobisoluista vapautuva ATP muodostaa yhdessä lusiferaasi-entsyymin kanssa näkyvää valoa, joka mitataan laitteella.

Laitteiston toimintamallin logiikkana on, että jos näytteessä ei ole mikrobeja, ei siellä ole patogeenejäkään. Kontaminoituneet näytteet tunnistetaan nopeasti ja koska näytteet säilyvät vahingoittumattomina, voidaan niitä helposti jatko käsitellä ja -testata. Puhtaat näytteet voidaan vapauttaa ilman jatkokäsittelyä.

Laitteisto ilmoittaa testin tuloksen helposti ymmärrettävänä värikoodattuna grafiikkana. Tulokset tallennetaan automaattisesti sähköiseen tietokantaan.

Esivalmistelut: Näytteen rikastus, inkubointi ja homogenisaatio vertikaaliravistelijalla.

Kapasiteetti: Analysoi jopa sata näytettä samanaikaisesti.

Analysointiaika: 18-24 tuntia

Hinta-arvio: Noin 10 000€

#### 10.4 Laitteisto 4

Teknologia: Autofluoresenssi-ilmiötä hyödyntävä virtausytometrilaite. Laitteen patentoitu teknologia merkitsee näytteessä olevat elävät fluoresoivat mikrobisolut, jotka laitteen tarkat sensorit havaitsevat ja laskevat näytteen virratessa sensorin ohitse. Mikrobisolut havaitaan jopa yhden solun tarkkuudella. Laitteisto soveltuu vain mikrobien kokonaismäärän selvittämiseen.

Laitteisto takaa tarkat ja luotettavat tulokset, sillä näytteistä havaitaan ja lasketaan kaikki elävät ja myös stressaantuneet tai vahingoittuneet mikrobisolut. Laitteisto on hyvin automatisoitu ja kertoo käyttäjälleen miten hänen tulee toimia vaihe vaiheelta. Laitteisto lisää näytteisiin tarvittavat fluoresoivat aineet ja kontrolloi inkubointiaikaa ja -lämpötilaa automaattisesti. Laitteisto ilmoittaa tuloksen selkeästi mikrobien kokonaismääränä grammassa tai millilitrassa näytettä.

Esivalmistelut: Näyte tulee saada nestemäiseen muotoon, joten laimennus on yleensä tarpeen.

Kapasiteetti: 150 näytettä päivässä

Analysointiaika: 24-48 tuntia

Hinta-arvio: Noin 55 000€

#### 11 Yhteenveto

Valmiiden kosmetiikkatuotteiden mikrobiologisen laadun testaamiseen soveltuvia automatisoituja ja nopeita laitteistoja on markkinoilla vielä melko rajoitetusti. Etenkin Suomen markkinoilla kosmetiikan mikrobiologiseen testaamiseen soveltuvia laitteistoja ja välineitä on vähän, mikä varmasti johtuu Suomen vähäisestä kosmetiikkateollisuudesta. Kysynnän puuttuessa yritysten kannattaa keskittyä muihin teollisuudenaloihin. Kuitenkin Suomessa useat yritykset tarjoavat mikrobiologisia testauspalveluja, jotka voidaan räätälöidä asiakkaan tarpeisiin sopiviksi.

Testilaitteen kustannukset riippuvat laitteen automaatioasteesta, testauskapasiteetista sekä teknologiasta, jota laite hyödyntää. Hyvin tarkat ja automatisoidut laitteet vaativat noin 50 000€ alkuinvestoinnin. Tällaiset laitteet soveltuvat parhaiten suurille kosmetiikkayrityksille sekä rahallisen investoinnin että testauskapasiteetin puolesta. Testilaitteet, jotka mittaavat

ainoastaan mikrobien läsnäoloa näytteessä ovat ymmärrettävästi halvempia kuin tarkemmat laitteistot ja alkuinvestointi on 10 000€ luokkaa. Tällaiset laitteet kuitenkin tarvitsevat tuekseen toisen testaustavan, mikäli testeissä ilmenee kontaminoitunut näyte.

Laitteistot soveltuvat laajasti erilaisten kosmeettisten valmisteiden testaamiseen, sillä validoinnin avulla jokaiselle tuotteelle tai tuoteperheelle voidaan laatia oma testausprotokollansa. Näytteiden esivalmistelut riippuvat aina testattavan näytteen tuotemuodosta ja raaka-aineista, joten esivalmistelujen yksiselitteinen kuvaaminen on mahdotonta. Laittevalmistajat tarjoavat kattavia validointipalveluja, jotka tuovat aina lisäkustannuksia.

Monet yritykset tarjoavat kosmetiikan mikrobiologisen laadun testausta palveluna kosmetiikan valmistajille. Tällöin kosmetiikkayrityksen ei tarvitse investoida laitteita ja välineitä laboratorioonsa vaan näytteet lähetetään muualle tutkittavaksi. Tulosten saanti kestää testistä riippuen kolmesta päivästä viikkoon. Selvitystyössä oltiin yhteydessä useaan palveluntarjoajaan. Kaikkien hintahaarukka yhden näytteen mikrobien kvalitatiiviselle ja kvantitatiiviselle määrittämiselle oli 100-200€.

Laitteiston hankinnan kannattavuus riippuu yrityksen testausmääristä. Mikäli yritys tuottaa esimerkiksi kuukaudessa useita kymmeniä tuote-eriä, jotka täytyy testata, tulee laitteiston hankinta lopulta selvästi kannattavammaksi kuin palveluna ostettu testaus. Laittehankinta onkin aina pidemmän ajan investointi, jonka tuottama arvo kasvaa ajan kuluessa.

Myös Naviter Oy:lle laitehankinta tulisi kannattavammaksi kuin ulkoistettuna palveluna ostettu testaus. Yrityksen ei kuitenkaan ole kannattavaa hankkia hyvin kallista automatisoitua laitteistoa, jonka testauskapasiteetti ei tule hyödynnettyä kaikessa laajuudessaan. Yritys voisi esimerkiksi yhdistää useampaa pienempää laitteistoa tai laitteistoa ja testauspalvelua. Testien suorittaminen yrityksen laboratoriossa säästää merkittävästi aikaa verrattuna näytteiden ulkoistettuun testauttamiseen. Tämä on hyödyllistä yrityksen omien tuotteiden myynnin kannalta sekä lisää yrityksen kilpailukykyä private label -tarjoajana. Yritys voisi luvata asiakasyrityksilleen valmiit tuotteet nopeammin kuin nykyisellä metodilla.

## 12 Pohdinta

Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää toimeksiantajayritykselle millaisia heidän tarkoitukseen soveltuvia laitteistoja ja välineitä markkinoilla on ja koota niistä tietoa, jota yritys voi hyödyntää suunnitellessaan laboratorionsa kehitystyön etenemistä ja laitehankintoja. Lisäksi opinnäytetyöstä haluttiin koota lukijalle selkeä kokonaisuus kosmetiikan mikrobiologisesta

laadunvalvonnasta. Sekä teoriaosuus että toiminnallisen osuuden kuvaus ovat tärkeitä selkeän kokonaisuuden kannalta.

Teoriaosuus antaa lukijalle kokonaiskuvan siitä, miten mikrobiologia ja mikrobit ylipäättään liittyvät kosmetiikkaan. Opinnäytetyön aiheen kannalta oleellisinta oli keskittyä valmistuksen aikana kohdattaviin mikrobiologisiin ongelmiin ja niiden ratkaisuun, mutta myös valmistuksen jälkeisiä tekijöitä kuvattiin selkeän kokonaisuuden takaamiseksi. Teoriaosuus avaa lukijalle toiminnallisena osuutena tehdyn selvitystyön tarkoitusta ja tarpeellisuutta.

Etenkin teoriaosuuden testausmenetelmiin keskittyvä osuus oli tärkeä toiminnallisen osuuden onnistumisen kannalta. Se ohjasi selvitystyön tekoa ja auttoi työn tekijää ymmärtämään laitteistojen toimintatapaa perusteellisemmin.

Opinnäytetyössä tehdyn selvitystyön tulosten pohjalta Naviter Oy voi entistä paremmin pohtia haluttujen testien sisäistämisen kannattavuutta. Selvitystyö oli pohjatyö, josta yrityksen laboratorion laadunvalvontaprosessin kehitystyö jatkuu. Selvitystyön pohjalta neuvottelut jatkuvat opinnäytetyön toimeksiantajayrityksen ja selvitystyössä kontaktoitujen yritysten välillä.

Opinnäytetyö oli osa laajempaa yrityksen laadunvalvontalaboratorion kehitystyötä. Kehitystyö voisi jatkua perehtymällä kosmetiikan säilyvyyden testausmenetelmiin ja stabilisaation testaukseen. Mikäli yritys päätyy tämän opinnäytetyön selvityksen pohjalta hankkimaan laitteiston laboratorioonsa, voitaisiin työtä jatkaa muun muassa validointiprosessin parissa.

Lähteet

Painetut:

Baird, R. M. & Bloomfield, S. F. 1996. Microbial Quality Assurance in Pharmaceuticals, Cosmetics, and Toiletries. 2. painos. Lontoo: Taylor & Francis Ltd.

Brannan, D. K. 1997. Cosmetic microbiology : a practical handbook. Florida: CRC Press.

Butler, H. 2000. Poucher's perfumes, cosmetics and soaps. 10. painos. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Dayan, N. & Kromidas, L. 2011. Formulating, Packaging, and Marketing of Natural Cosmetic Products. New Jersey: John Wiley & Sons.

Geis, P. A. 2006. Cosmetic microbiology : a practical approach. 2. painos. New York: Taylor & Francis.

Jimenez, L. 2001. Molecular Diagnosis of Microbial Contamination in Cosmetic and Pharmaceutical Products: A Review. Journal of AOAC International 05/2001, 671-675.

Knowlton J.L. & Pearce S.E.M. 1993. Handbook of Cosmetic Science & Technology. Oxford: Elsevier Advanced Technology.

Madigan, M. T., Martinko, J. M. & Parker, J. 2003. Brock biology of microorganisms. 10. painos. New Jersey: Prentice Hall.

Orth, D. S. 2010. Insights into cosmetic microbiology. Illinois: Allured.

Orth, D. S. 2013. Cosmetic and Drug Microbiology. Hoboken: Taylor and Francis.

Rieger, M. M. 2000. Harry's cosmeticology. 8. painos. New York: Chemical Publishing.

Schlossman, M. L. 2009. The chemistry and manufacture of cosmetics. 1, Science. 4. painos. Illinois: Allured.

Sähköiset:

Brannan, D. K. 1995. Cosmetic preservation. Viitattu 24.4.2015. <http://journal.scconline.org/pdf/cc1995/cc046n04/p00199-p00220.pdf>

Cosmetics Europe. 1997. Guidelines on Microbial Quality Management. Viitattu 12.3.2015 <https://www.cosmeticseurope.eu/publications-cosmetics-europe-association/guidelines.html?view=item&id=28>

Cosmetics Europe. Preservatives. Viitattu 24.4.2015. <https://www.cosmeticseurope.eu/safety-and-science-cosmetics-europe/products-and-ingredients/preservatives.html>

De Boer, E. 2014. Understanding and Implementing the Requirements of the ISO 22716 Safety Certification Standard for Cosmetic Products. Viitattu 28.4.2015. <http://www.sgs.com/-/media/Global/Documents/White%20Papers/sgs-cosmetics-whitepaper-en-11.ashx>

De Gannes, G. C. & Hamilton, T. 2011. Allergic Contact Dermatitis to Preservatives and Fragrances in Cosmetics. Viitattu 12.5.2015 <http://www.skintherapyletter.com/2011/16.4/1.html>

Detmer, A., Jørgensen, C. & Nylén, D. 2010. A guidance document on microbiological control of cosmetic products. Viitattu 3.11.2015. <http://www2.mst.dk/udgiv/publications/2010/978-87-92668-66-0/pdf/978-87-92668-67-7.pdf>

Elintarviketurvallisuusvirasto Evira. 2013. Yleistä mikrobeista. Viitattu 23.11.2015. <http://www.evira.fi/portal/fi/elintarvikkeet/hygieniaosaaminen/tietopaketti/elintarvikkeiden+riski-+ja+vaaratekijat/mikrobiologiset+vaaratekijat/yleista+mikrobeista>

Euroopan komissio. 2009. Komission asetus (EY) N:o 1223/2009. Viitattu 12.3.2015 <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:342:0059:0209:fi:PDF>

ISO, the International Organization for Standardization. Standards catalogue. Viitattu 18.5.2015. [http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue\\_tc.htm](http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc.htm)

Kaukua, J. & Mustajoki, P. 2008. Mikrobin tunnistaminen DNA:n avulla. Viitattu 9.11.2015. [http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p\\_artikkeli=snk03222](http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti?p_artikkeli=snk03222)

Kosek, J., Mierzejewski, J. & Woźniak-Kosek, A. 2013. Microbes indicators of cosmetic preservation efficiency. Part III: Candida albicans. Viitattu 23.4.2015. <http://www.mil-pharm-med.pl/2013/1-6/4.pdf>

Naviter Oy. 2015. Naviter Cosmetics. Viitattu 6.11.2015. <http://www.naviter.fi/>

Rapid Test Methods Ltd. 2001-2015. Home and Beauty Products - Rapid Micro Methods. Viitattu 3.11.2015. <http://www.rapidmicrobiology.com/test-method/rapid-microbiological-methods-for-the-home-and-beauty-industry/>

Scientific Committee on Consumer Safety. 2012. The SCCS's Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Substances and Their Safety Evaluation 8<sup>th</sup> Revision. Viitattu 12.3.2015. [http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/consumer\\_safety/docs/sccs\\_s\\_006.pdf](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_s_006.pdf)

Suomen Standardiliitto SFS Ry. Mihin standardeja tarvitaan?. Viitattu 13.3.2015. [http://www.sfs.fi/julkaisut\\_ja\\_palvelut/standardi\\_tutuksi/mihin\\_standardeja\\_tarvitaan](http://www.sfs.fi/julkaisut_ja_palvelut/standardi_tutuksi/mihin_standardeja_tarvitaan)

Wikimedia Commons. 2012. File:Staphylococcus aureus - BP agar.png. Viitattu 23.11.2015. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus\\_aureus\\_-\\_BP\\_agar.png](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Staphylococcus_aureus_-_BP_agar.png)

Wikimedia Commons. 2012. File:Pseudomonas aeruginosa culture.JPG. Viitattu 23.11.2015. [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pseudomonas\\_aeruginosa\\_culture.JPG](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Pseudomonas_aeruginosa_culture.JPG)

Wikipedia. 2015. Candida albicans. Viitattu 23.11.2015. [https://en.wikipedia.org/wiki/Candida\\_albicans](https://en.wikipedia.org/wiki/Candida_albicans)



## Kuvat

Kuva 1: <i>Pseudomonas aeruginosa</i> -bakteerin pesäkkeitä viljelyalustalla (Wikimedia Commons 2012).....	11
Kuva 2: <i>Staphylococcus aureus</i> -bakteerin pesäkkeitä viljelyalustalla (Wikipedia 2012). ...	12
Kuva 3: <i>Candida albicans</i> -hiivasienen pesäkkeitä viljelyalustalla (Wikimedia Commons 2015). .....	13

## Taulukot

Taulukko 1: Kosmetiikkatuotteiden mikrobien kvantitatiiviset ja kvalitatiiviset raja-arvot (Scientific Committee on Consumer Safety 2012, 75-76). .....	17
--	----